

**РОЛЬ ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В РЕГУЛЯЦИИ ТОНУСА
КОРОНАРНЫХ СОСУДОВ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ ПОСЛЕ
ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ АДАПТАЦИИ КРЫС К СТРЕССУ**

Лазуко С.С., Лебединская А.Ю.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. В недавних работах продемонстрировано, что во время острой фазы экспериментального стрептозотоцин-индуцированного диабета, проявляются признаки эндогенной защиты, которые приводят к высокой устойчивости сердца от перегрузки ионами кальция и ишемии [1, 2]. Установлено, что одним из важнейших патогенетических механизмов диабетических макро- и микроангиопатий является дисфункция эндотелиоцитов кровеносных сосудов. В частности, она характеризуется снижением экспрессии гена эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и уменьшением активности этой изоформы фермента при повышении активности индуцибельной NO-синтазы (iNOS) во многих типах клеток, в т.ч. в кардиомиоцитах [3], сосудистых гладкомышечных клетках [4] и эндотелиоцитах кровеносных сосудов [4].

Нами тестируются гипотезы о том, что: 1) предварительная адаптация короткими стрессорными воздействиями играет особую роль в регуляции тонуса коронарных сосудов и сократительной способности миокарда у крыс, с экспериментальным сахарным диабетом; 2) индуцибельная NO-синтаза играет особую роль в механизмах регуляции тонуса сосудов сердца и сократительной активности миокарда у крыс при экспериментальном сахарном диабете, развивающимся на фоне предварительной адаптации к стрессу.

Цель исследования. Определить роль индуцибельной NO-синтазы в механизмах регуляции тонуса сосудов сердца и сократительной активности миокарда у крыс при экспериментальном сахарном диабете, развивающимся на фоне предварительной адаптации к стрессу.

Материал и методы. Опыты на животных проводили в соответствии с протоколом по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными, утвержденным Комиссией ВГМУ. Беспородные крысы-самки были распределены по группам: (1) «Контроль» (n=12); (2) «Адаптация» (n=8); (3) «Сахарный диабет» (n=8); (4) «Сахарный диабет+адаптация» (n=8).

Через сутки после адаптации к стрессу у животных моделировали экспериментальный сахарный диабет. Сахарный диабет у крыс моделировали с помощью однократного внутрибрюшинного введения стрептозоцина (50 мг/кг), разведенного в цитратном буфере (pH 4,5). Через 14 дней после введения стрептозоцина крыс с уровнем глюкозы в крови выше 20 ммоль/л и глюкозурией брали в эксперимент.

Тонус коронарных сосудов и сократительную функцию миокарда изучали на препаратах сердец крыс, изолированных по методу Лангендорфа. Сердца перфузировали в условиях постоянного потока. Для изучения роли оксида азота в механизмах регуляции тонуса коронарных сосудов в перфузионный раствор добавляли высокоселективный блокатор iNOS S-метилизотиомочевину (S-MT, 10^{-6} M, Sigma, USA).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью стандартного пакета статистических программ «STATISTICA 10.0» и «MS Excel». Величины количественных показателей в экспериментальных группах представляли в виде медианы (Me), интерквартильного интервала [25%; 75%]. Проверку статистических гипотез выполняли при критическом уровне значимости 5% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. В группе животных с экспериментальным сахарным диабетом до и после адаптации уровень глюкозы в крови составил $26,4 \pm 1,3$ ммоль/л, то

есть в 5 раз выше, чем у контрольных крыс ($5,7 \pm 1,1$ ммоль/л, $p < 0,05$). По истечении 14-ти дней после введения стрептозоцина до и после адаптации масса тела у крыс снижалась в среднем на 19%, выживаемость составляла 70%. Выживаемость животных в группе «Адаптация+сахарный диабет» составляла 100%.

В группе животных «Адаптация+сахарный диабет» значения перфузионного давления при всех уровнях объемной скорости коронарного потока (ОСКП), развиваемое внутрижелудочковое давление (РВД) и первая производная (dP/dt) были сопоставимы с контрольными показателями. Эти факты свидетельствуют о некоем «прекондиционирующем» влиянии предварительной адаптации короткими стрессорными воздействиями на фенотипические свойства клеток сосудов сердца и кардиомиоцитов, ярко проявляющемся при последующем сахарном диабете.

Добавление в перфузионный раствор S-MT приводило к повышению коронарного перфузионного давления в группе «Адаптация+сахарный диабет» при ОСКП 6, 8, 10 и 15 мл/мин на 32, 44, 71 и 30%, соответственно ($p < 0,05$, по сравнению с контролем). В то же время, блокада iNOS не оказывала влияния на величины развиваемого внутрижелудочкового давления и показатели первой производной (dP/dt). Вероятно, в условиях хронического сахарного диабета, моделируемого на фоне адаптации, могло развиваться т.н. «разобщение» субъединиц вновь образовавшейся индуцированной NO-синтазы, и такой фермент, наряду с NO, мог производить супероксидный радикал, пероксинитрит, нитрозотиолы или другие соединения с последующим уменьшением биодоступности NO [5].

В условиях продолжительной гипергликемии в эндотелиоцитах возрастает образование вазоконстрикторов, в частности, эндотелина-1 [6] и изменяются механизмы регуляции гомеостаза ионизированного кальция в сосудах гладкомышечных клетках [7]. По-видимому, фенотипические свойства клеток кровеносных сосудов изменялись в условиях гиперпродукции NO в большей степени, чем свойства кардиомиоцитов: в то время как селективный блокатор индуцированной NO-синтазы S-MT приводил к существенному увеличению коронарного перфузионного давления в изолированных сердцах крыс, перенесших сахарный диабет на фоне предварительной адаптации, сократительная функция миокарда и первая производная (dP/dt) при этом практически не изменялись.

Выводы. Установлено, что ослабление миогенного тонуса коронарных сосудов и снижение сократительной функции миокарда при стрептозоцин-индуцированном сахарном диабете, развивающиеся на фоне адаптации к стрессу, во многом обусловлены стимуляцией индуцибельной NO-синтазы, которая в этих условиях может продуцировать не только оксид азота, но и активные формы кислорода. Дальнейшее изучение механизмов регуляции тонуса кровеносных сосудов в этих условиях будет полезным для разработки новых методов профилактики и лечения сосудистых «катастроф» у пациентов с сахарным диабетом.

Литература:

1. Hypercholesterolemia antagonized heart adaptation and functional remodeling of the mitochondria observed in acute diabetes mellitus subjected to ischemia/reperfusion injury / M. Ferko [et al.] // *Journal of physiology and pharmacology*. – 2018. – Vol. 69, № 5. – P. 685-697.
2. Ward, M.L. Mechanisms underlying the impaired contractility of diabetic cardiomyopathy / M.L. Ward, D.J. Crossman // *World J Cardiol*. – 2014. – Vol. 6. – P. 577-584.
3. Acute hyperglycemia induces nitrotyrosine formation and apoptosis in perfused heart from rat / Antonio Ceriello [et al.] // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51. – P.1076-1082.
4. Increased expression of iNOS is associated with endothelial dysfunction and impaired pressor responsiveness in streptozotocin-induced diabetes / P.R. Nagareddy, [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. – 2005. – Vol. 289, № 5. – P. H2144-2152.

5. Kietadisorn, R. Tackling endothelial dysfunction by modulating NOS uncoupling: new insights into its pathogenesis and therapeutic possibilities / R. Kietadisorn, P. Juni Rio, An. L Moens // *Am J Physiol Endocrinol Metab.* – 2012. – Vol. 302. – P. E481-E495.
6. Involvement of the endothelin and nitric oxide systems in the pathogenesis of renal ischemic damage in an experimental diabetic model / N. Abu-Saleh [et al.] // *Life Sci.* – 2012. – Vol. 91, №13-14. – P. 669-675.
7. Descorbeth, M. Role of oxidative stress in high-glucose- and diabetes-induced increased expression of Gq/11 α proteins and associated signaling in vascular smooth muscle cells / M.Descorbeth, M.B. Anand-Srivastava // *Free Radic Biol Med.* – 2010. – Vol. 49, №9 – P.1395-1405.

УДК 616-052-002.3

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОСОБНОСТИ IGG К РАСЩЕПЛЕНИЮ ПЕПТИДОГЛИКА НА КЛЕТОЧНОЙ СТЕНКЕ БАКТЕРИЙ

Лептеева Т.Н., Сенькович С.А., Шилин В.Е.

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Проблема хирургической инфекции в настоящее время остается одной из актуальных для здравоохранения Республики Беларусь. Увеличение числа осложнений операционных ран и гнойно-воспалительных заболеваний многочисленными авторами связывается с широким и нерациональным использованием антибиотиков, ростом устойчивости микроорганизмов к ним, снижением резистентности макроорганизма [1, 2]. Пациенты с гнойными заболеваниями составляют 35-40% среди всех госпитализированных в хирургические отделения, частота развития послеоперационных осложнений достигает в среднем 30-40%, а летальность среди них 70%, что значительно увеличивает экономические потери общества: продолжительное пребывание пациента в стационаре и дополнительные расходы по его лечению [3]. Интерес и постоянное внимание к этой проблеме объясняется тяжелым течением раневого процесса, сохранением тенденции к возрастанию количества длительно текущих и рецидивирующих процессов [4].

Цель работы. Определить способность IgG к расщеплению пептидогликана клеточной стенки бактерий.

Материал и методы. Для выделения пептидогликана из грамположительных бактерий использовали *Micrococcus lysodeikticus* ATCC 4698, так как данная культура наиболее чувствительная к лизоциму. *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC 4698) выращивают на мясо-пептонном агаре. Суточную культуру дважды отмывали физиологическим раствором от компонентов питательной среды. Центрифугировали 1,7 тыс. об/мин в течение 40 мин. К полученной суспензии добавляли 20 мл предварительно нагретого до 90°C 30%-ного водного фенола. Смесь перемешивали в течение 20 минут при температуре 85-87°C, после чего охлаждали до температуры 20-23°C и трижды центрифугировали в течение 10 мин при 1,7 тыс. об/мин, каждый раз удаляя надосады. На данном этапе происходило освобождение от липополисахарида (ЛПС), белков, нуклеиновых кислот и других нековалентно связанных с пептидогликаном клеточной стенки компонентов бактериальной клетки. В качестве экстрагента использовали 30%-ный водный фенол при температуре от 65-68°C (экстракция по Вестфалу), так как при этой температуре происходит полная гомогенизация смеси фенола и воды. К полученному раствору добавляли дистиллированную воду до общего объема 300 мл и 3 мл 100% уксусной кислоты. Продукт, полученный на предыдущей стадии, перемешивали при температуре 100°C в течение 3 часов с целью освобождения от следовых количеств ЛПС. Осадок после охлаждения помещали на магнитную мешалку в течение 10 минут и